

ОБЗОРЫ

Научный обзор

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-160>



Роль плазменного ингибитора сериновых лейкоцитарных протеиназ в защите организма от COVID-19

Кравцов А.Л.[✉], Бугоркова С.А.

Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Россия

Аннотация

Пандемия COVID-19 продолжается, нанося колоссальный ущерб населению и мировой экономике. По мере изучения COVID-19 появляются новые данные относительно риска тяжёлого течения коронавирусной инфекции у пациентов с дефицитом α_1 -антитрипсина (ААТ). ААТ — основной ингибитор и ключевой эндогенный регулятор активности сериновых лейкоцитарных протеиназ, высвобождаемых из гранул активированных нейтрофилов на поверхность клеток и во внеклеточное пространство. Установлено, что число случаев тяжёлого течения и летального исхода COVID-19 на территориях 68 стран мира коррелирует с частотой распространения среди населения этих стран мутации в гене протеиназного ингибитора, при которой концентрация ААТ в плазме крови человека в 10 раз ниже нормы. Всё это способствует пересмотру ряда положений патогенеза и терапии COVID-19.

В обзоре представлен анализ литературы о роли ингибитора сериновых лейкоцитарных протеиназ в защите организма от COVID-19. Рассмотрено участие ААТ в ингибировании процесса проникновения SARS-CoV-2 в эпителиальные клетки дыхательных путей, в защите эндотелия сосудов, белков плазмы крови и эластина лёгочной ткани от повреждающего действия лейкоцитарной эластазы, высвобождаемой при дегрануляции нейтрофилов и формировании нейтрофильных внеклеточных ловушек. Показана роль ААТ в супрессии воспаления посредством ограничения секреции в кровь провоспалительных цитокинов и нейтрофильных внеклеточных ловушек. Детализированы отдельные звенья патогенеза новой коронавирусной инфекции, что позволит пересмотреть стратегию снижения рисков тяжёлого течения COVID-19.

Ключевые слова: COVID-19, SARS-CoV-2, α_1 -антитрипсин, нейтрофильные внеклеточные ловушки, лейкоцитарная эластаза

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Кравцов А.Л., Бугоркова С.А. Роль плазменного ингибитора сериновых лейкоцитарных протеиназ в защите организма от COVID-19. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021;98(5):567–578.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-160>

Review article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-160>

The role of plasma serine leukocyte proteinase inhibitor in the body's defense against COVID-19

Aleksandr L. Kravtsov[✉], Svetlana A. Bugorkova

Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Saratov, Russia

Abstract

The COVID-19 pandemic continues, causing colossal damage to the population and the global economy. As COVID-19 is studied, new data are emerging regarding the risk of severe coronavirus infection in patients

with α_1 -antitrypsin deficiency. α_1 -Antitrypsin is the main inhibitor and key endogenous regulator of the serine leukocyte proteinase activity released from the granules of activated neutrophils to the cell surface and into the extracellular space. It has been established that the number of cases of severe course and death of COVID-19 in the territories of 68 countries of the world correlates with the frequency of the spread of mutations in the proteinase inhibitor gene among the population of these countries, at which the concentration of α_1 -antitrypsin in the human blood plasma is 10 times lower than normal. All this contributes to the revision of a number of provisions of the pathogenesis and therapy of a new coronavirus infection.

The review presents an analysis of the literature on the role of an inhibitor of serine leukocyte proteinases in protecting the body from COVID-19. The participation of α_1 -antitrypsin in the inhibition of SARS-CoV-2 penetration into the respiratory tract epithelial cells, in the protection of the vascular endothelium, blood plasma proteins and elastin of the lung tissue from the damaging effect of leukocyte elastase released during neutrophil degranulation and the formation of neutrophil extracellular traps (NETs) is considered. The role of α_1 -antitrypsin in suppressing inflammation by limiting the secretion of proinflammatory cytokines and neutrophil extracellular traps into the blood has been shown. The individual links in the pathogenesis of the new coronavirus infection have been detailed, which will allow revising the strategy for reducing the risks of severe course of COVID-19.

Keywords: COVID-19, SARS-CoV-2, α_1 -antitrypsin, neutrophil extracellular traps, leukocyte elastase

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Kravtsov A.L., Bugorkova S.A. The role of plasma serine leukocyte proteinase inhibitor in the body's defense against COVID-19. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2021;98(5):567–578. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-160>

Введение

COVID-19 (COronaVirus Disease 2019) — это потенциально тяжёлая, острая респираторная инфекция, вызываемая новым коронавирусом (SARS-CoV-2) из группы бета-коронавирусов. Быстро распространяясь по территориям различных стран, этот вирус способен вызывать у некоторых пациентов серьёзное заболевание с развитием тяжёлого острого респираторного синдрома, диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС-синдрома) и полиорганной недостаточности [1, 2].

Развитие острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) приводит к выраженному нарушению дыхательной функции [3]. Смертность среди пациентов с ОРДС, нуждающихся в проведении искусственной вентиляции лёгких, составляет 20–50% [1, 4].

Продолжающийся рост числа погибших пациентов на фоне увеличения общего количества лиц, заражённых SARS-CoV-2, заставляет учёных, специалистов медицинских организаций и фармацевтических компаний активизировать исследования, направленные на изучение молекулярных механизмов патогенеза этой опасной инфекции, на поиск эффективных средств терапии и профилактики COVID-19, способных существенно снизить показатель смертности [5, 6].

Влияет ли концентрация альфа-1-антитрипсина в плазме крови человека на тяжесть течения инфекции, обусловленной вирусом SARS-CoV-2?

В патогенезе COVID-19 выделяют 3 стадии развития болезни [4], каждая из которых соответ-

ствует этапам распространения вируса SARS-CoV-2 по респираторному тракту:

1) бессимптомное состояние (от 1 до 2 дней), когда вирус связывается с рецепторным аппаратом эпителиальных клеток интраназальной области, проникает в них и начинает репликацию;

2) стадия манифестации заболевания, когда в верхних дыхательных путях развивается острая защитная воспалительная реакция, предотвращающая либо не предотвращающая дальнейшее размножение вируса и его миграцию в течение нескольких следующих дней вниз по проводящим дыхательным путям к лёгким;

3) альвеолярная фаза с наиболее выраженными клиническими проявлениями, когда вирус поражает альвеоциты II типа и эндотелиоциты, а также запускает массивный апоптоз этих клеток на фоне гиперсекреции активированными нейтрофилами в кровь и межальвеолярное пространство нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ).

Важно, что до альвеолярной фазы заболевание прогрессирует только у 19–20% лиц, заражённых SARS-CoV-2 [1, 4]. И даже в этом случае у 14% пациентов болезнь протекает при сравнительно слабом повреждении эндотелия и умеренном нарушении дыхательной функции (среднетяжёлое течение) [4]. Лишь у 5% пациентов эта фаза может завершиться альвеолярным коллапсом с интенсивными эндотелиальными повреждениями, отёком лёгких и развитием характерного для ОРДС обширного разрушения лёгочной ткани (тяжёлое течение) [2–4]. Грубые нарушения гемостаза регистрируются у 100% пациентов с тяжёлым течением COVID-19. Через повреждённые участки эндотелия SARS-CoV-2 проникает в кровотоки, вызывая развитие вирусемии и септического

шока, что даже на фоне лечения в 20–50% случаев приводит к смерти больного [1].

Сопоставление этих данных с относительным количеством жителей Европейского континента и США, имеющих мутации в гене протеиназного ингибитора, контролирующего продукцию в организме α_1 -антитрипсина (ААТ), выявило интересную закономерность. Доля тяжёлых и среднетяжёлых случаев течения COVID-19, связанных с альвеолярной фазой развития болезни (19–20%), практически совпадала с долей лиц, имеющих сниженную концентрацию ААТ в плазме в результате 5 наиболее часто встречающихся генетических мутаций (15–17%) [7]. Самой неблагоприятной признана мутация гена протеиназного ингибитора в аллели Z, для которой характерно максимальное (до 10–15% от нормы) снижение концентрации ААТ в периферической крови. Именно эта врождённая патология обычно имеется в виду, когда исследователи используют в своих публикациях термин «дефицит ААТ» [7, 8]. И здесь снова интересная закономерность: доля носителей этой мутации в Европе и США достигает 4–5% и частота критических вариантов развития COVID-19 в этих странах, по данным статистики, — порядка 5%.

ААТ — белок, который вырабатывается печенью и участвует в инактивации ферментов, при этом основная его функция состоит в защите лёгких от эластазы, высвобождаемой из гранул нейтрофилов в ответ на внедрение инфекционного агента и являющейся биохимическим маркёром воспалительного процесса. Если активность эластазы не контролируется ААТ, она начинает разрушать ткани лёгких.

Дефицит ААТ неизбежно ведёт к развитию эмфиземы — как первично, так и на фоне хронического бронхита, хронической обструктивной болезни лёгких или любого другого неспецифического хронического лёгочного заболевания [9, 10]. Кроме того, на фоне дефицита ААТ развиваются системные васкулиты, диабет 1-го типа, ревматоидный артрит и другие аутоиммунные воспалительные болезни [7]. Именно пациенты с хронической обструктивной болезнью лёгких, эмфиземой и аутоиммунными заболеваниями относятся к группе риска по развитию тяжёлого течения COVID-19 [2].

Эпидемиологические исследования Н. Yoshikura показали, что существует сильная прямая корреляционная связь между распространённостью дефицита ААТ на территориях 68 стран мира и эпидемической ситуацией по COVID-19: как по числу инфекционных осложнений ($r = 0,8584$; $p < 0,05$), так и по количеству смертельных исходов ($r = 0,8713$; $p < 0,05$) [11]. Отмечено, что в странах с высокой распространённостью дефицита ААТ (Европа и США) высокий показатель смертности от COVID-19 сохранялся на протяжении более 6 мес и не зависел от изменения ситуации по заболеваемо-

сти, в то время как в странах с низкой распространённостью дефицита ААТ (Япония, Китай и другие страны Азии) после первой волны эпидемии количество смертей постоянно снижалось, при этом общее число пациентов оставалось таким же или даже увеличивалось [11].

α_1 -Протеиназный ингибитор, приготовленный из плазмы крови человека [12], на протяжении десятилетий применяется в качестве заместительной терапии дефицита ААТ при профилактике эмфиземы и других хронических воспалительных заболеваний, связанных с разрушением соединительной ткани [7]. При его внутривенном введении стабилизируются параметры гемодинамики и коагуляции при септическом шоке и ДВС-синдроме [13]. Поскольку в настоящее время этот препарат рассматривают в качестве перспективного средства экстренной профилактики и лечения COVID-19 [6, 12, 14], важное значение приобретают накопление и анализ имеющейся информации о физиологической функции, выполняемой плазменным ААТ в организме человека. При дальнейшем изложении материала, опираясь на схему, представленную на **рисунке**, мы постараемся рассмотреть роль ААТ с позиции реализации возможных патофизиологических механизмов инактивации повреждающего действия SARS-CoV-2 на клетки макроорганизма.

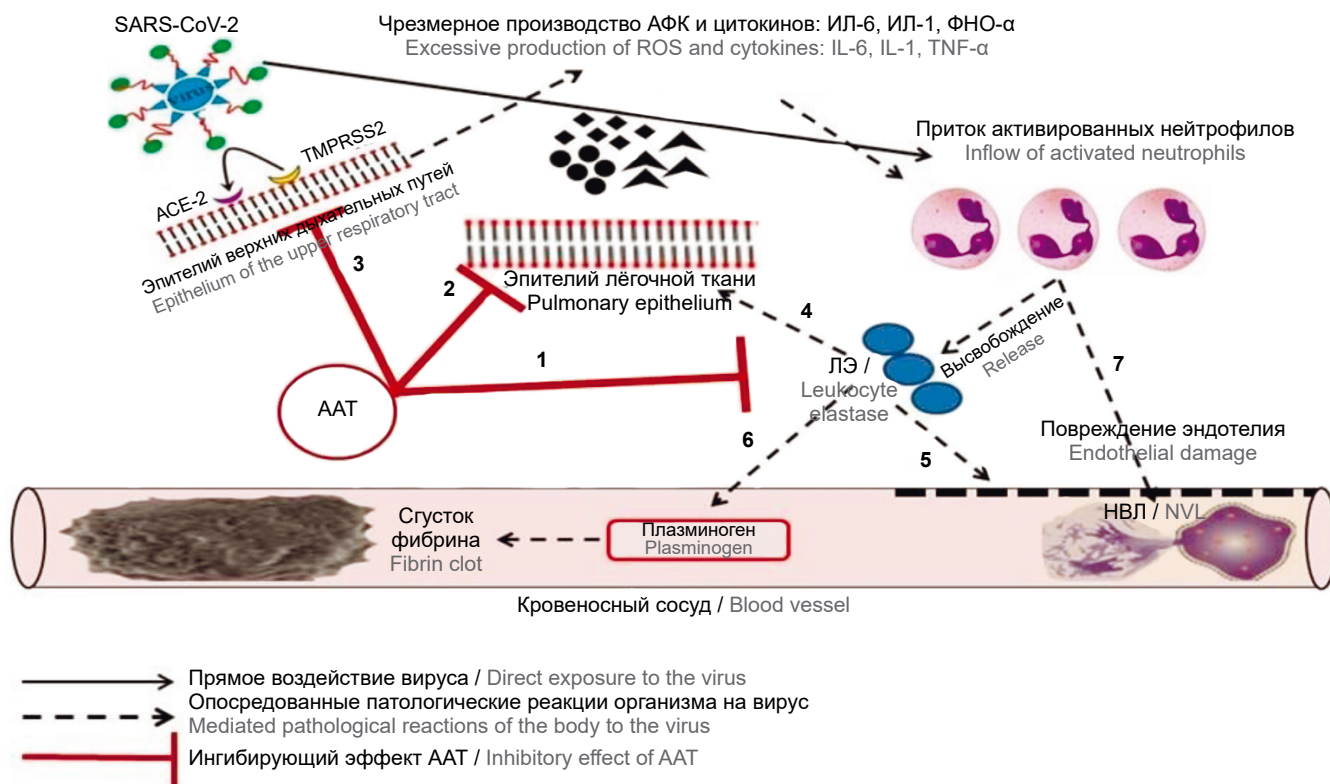
Роль α_1 -антитрипсина в защите клеток и тканей организма от разрушительного действия лейкоцитарной эластазы

Плазма крови содержит 7 белковых ингибиторов сериновых протеиназ (серпинов), составляющих около 10% всех присутствующих в ней белков [10].

К ним относятся:

- SERPINA1 (ААТ, часто называемый α_1 -протеинасным ингибитором), который защищает лёгочную ткань от лейкоцитарной эластазы (ЛЭ);
- SERPINA5 (ингибитор С белка);
- SERPINC1 (антитромбин), контролирующий протеазы коагуляции;
- SERPIND (гепариновый кофактор II);
- SERPINE1 (ингибитор активатора плазминогена);
- SERPING1 (ингибитор С1), регулирующий комплемент, калликреин и активацию контактной фазы;
- SERPINF2 (α_2 -антиплазмин), который ингибирует плазмин и регулирует фибринолиз.

Баланс между сериновыми протеазами плазмы крови и их серпинами, обеспечивающий нормальное функционирование биологических систем здорового организма, грубо нарушается при COVID-19 в 4 основных протеолитических каскадах (коагуляции, комплемента, фибринолиза и калликреина) под влиянием ЛЭ, в большом количестве высво-



Примерная схема противодействия SARS-CoV-2 посредством ААТ.

- 1 — нейтрализация внеклеточной протеолитической активности лейкоцитарной эластазы, предотвращающая повреждение легочного эпителия (4), эндотелия сосудов (5), разрушение плазминогена (6) и чрезмерное формирование НВЛ (7);
- 2 — эндогенная супрессия гиперпродукции клетками активных форм кислорода (АФК) и провоспалительных цитокинов, препятствующая генерализации воспалительной реакции;
- 3 — подавление процесса проникновения коронавируса в эпителиальные клетки, обусловленное ингибированием активности сериновых протеиназ (трансмембранной сериновой протеазы 2-го типа — transmembrane protease serine 2 — TMPRSS-2 и др.), расщепляющих S-белок SARS-CoV-2 на субъединицы.

An exemplary scheme for countering SARS-CoV-2 by means of AAT.

- 1 — neutralization of the extracellular proteolytic activity of leukocyte elastase, preventing damage to the pulmonary epithelium (4), vascular endothelium (5), destruction of plasminogen (6) and excessive formation of NVL (7);
- 2 — endogenous suppression of overproduction of ROS and pro-inflammatory cytokines by cells, preventing the generalization of the inflammatory response;
- 3 — suppression of the process of penetration of coronavirus into epithelial cells due to inhibition of the activity of serine proteases (type 2 transmembrane protease serine 2 — TMPRSS-2, etc.), which cleave the SARS-CoV-2 S-protein into subunits.

бождаемой из гранул активированных нейтрофилов при массивной дегрануляции и нетозе этих клеток в ткани лёгких, печени и других органов. В результате при COVID-19 в организме развивается «протеолитический шторм» и связанный с ним «цитокиновый шторм» на фоне формирующейся гиперактивности коагуляционного каскада, эндотелиопатии и гипоксии, что ведёт к интенсивному разрушению эластина лёгочной ткани и к тромботическим осложнениям в сосудах различных органов [4]. По данным недавно проведённых клинических исследований, дисбаланс в системе эластаза–ААТ имеет место в организме всех пациентов с тяжёлой формой COVID-19, особенно в период, предшествующий гибели организма от новой коронавирусной инфекции [15].

Уровень активности ЛЭ в мазках из носоглотки пациентов с диагнозом COVID-19 в 3 раза выше

нормы [16], а в крови и бронхоальвеолярном лаваже пациентов с сепсисом и ОРДС отмечается десятикратное увеличение значений данного показателя [17, 18]. Обладая самой широкой субстратной специфичностью, эта сериновая протеаза при дисбалансе в системе фермент–ингибитор (эластаза–ААТ) гидролизует не только различные структурные белки, включая эластин, но и множество белков плазмы крови: факторы гемокоагуляции, фибринолиза, калликреин-кининовой системы и компонента, в том числе все перечисленные выше серпины [9, 10]. Установлена ключевая роль ЛЭ в разрушении лёгочной ткани при хронической обструктивной болезни лёгких, эмфиземе, других лёгочных заболеваниях и ОРДС [19] и, соответственно, роль ААТ в предотвращении этих повреждений [7]. Способность инактивировать практически все регуляторные компоненты протеолитических систем,

ответственных за процессы адаптации и защиты, определяет решающую роль ЛЭ в нарушении регуляции процессов свертывания крови при туберкулезе [20], раке лёгких [21] и, видимо, при COVID-19 [2, 4, 5, 15].

Грубое нарушение гемостаза при тяжёлой форме COVID-19 проявляется в резком снижении содержания в крови антитромбина III и протеазы ADAMTS13 на фоне «протеолитического шторма» и «цитокинового шторма» [4], разрушении эластазой плазминогена без образования функционально активного плазмина [2, 5], повышении концентрации D-димера и продуктов деградации фибриногена [1, 15], а также в появлении в периферической крови пациентов НВЛ в количестве более 16% [22]. Считается, что у пациентов с острой септиемией изменение уровня факторов свертывания и возрастание количества фрагментов деградации фибриногена является результатом прямого протеолитического расщепления белков плазмы крови сериновыми лейкоцитарными протеазами (СЛП) [18, 20, 23].

Среди присутствующих в крови серпинов ААТ имеет наибольшую концентрацию (норма от 1,2 до 2 мг/мл) и обеспечивает около 80% общего антипротеолитического потенциала плазмы крови [10]. Этот белок, продуцируемый гепатоцитами и в меньшей степени лёгочными эпителиальными клетками [8], является ингибитором трех СЛП: эластазы, катепсина G и протеазы 3, но считается ингибитором в основном ЛЭ, поскольку в зрелых нейтрофилах крови человека только эластаза присутствует в огромной концентрации (5,33 мМ или около 67 000 молекул на одну гранулу) [24] и является наиболее изученной СЛП, на долю которой в первичных гранулах этих клеток приходится не менее 90% суммарной протеолитической активности [9]. Кроме ААТ, ЛЭ может связываться в плазме крови только с α_2 -макроглобулином, который подавляет её активность с меньшей эффективностью. Другие плазменные серпины в отношении ЛЭ не активны [10].

При стимуляции нейтрофилов хемоаттрактантами СЛП в строго определённом количестве высвобождаются из гранул на клеточную поверхность, где функционируют, проявляя свою каталитическую активность, в присутствии ААТ за счёт подавления процесса образования связей фермент-ингибитор АФК, продуцируемой клеткой при «окислительном взрыве» [25, 26]. В сравнении с низкой поверхностной экспрессией СЛП на неактивированных клетках хемоаттрактанты (fMLP и C5a) повышают её в 3 раза, но на фоне предварительного праймирования нейтрофилов липополисахаридами (ЛПС) стимулирующий эффект хемоаттрактантов даёт различия в уровне экспрессии СЛП уже не в 3, а в 10 раз. Повышение уровня поверхностной экспрессии протеаз в 30 раз вызывает активатор функции нейтрофилов форбол-12-миристан-13-ацетат

[25], который является классическим и наиболее часто используемым на практике индуктором нетоза [27, 28].

В точке контакта активированного нейтрофила с эндотелием ААТ и АФК регулируют каталитическую активность поверхностной ЛЭ в пространстве и времени, ограничивая протеолитическое действие фермента расстоянием не более 1,33 мкм от клетки и длительностью не более 12,4 мс [24]. В условиях нормальной регуляции, когда нет дефицита ААТ и/или отсутствует чрезмерная дегрануляция нейтрофилов, обеспечивается умеренное и достаточно быстрое расщепление эластазой кадгерина, ответственного за плотное соединение эндотелиальных клеток, что формирует в эндотелии «щель» оптимального размера для выхода нейтрофилов из сосудистого русла [29]. При дефиците ААТ регуляция процесса нарушается, приводя к эндотелиальному повреждению, т.к. в данном случае в 2,5 раза увеличивается расстояние, на которое распространяется протеолитический эффект поверхностной ЛЭ, и, главное, в 6 раз увеличивается промежуток времени, в течение которого ЛЭ оказывает на эндотелий своё повреждающее воздействие [24].

Расщепляя белковую часть гепарансульфат-протеогликана, входящего в состав образуемого эндотелиальными клетками внеклеточного матрикса, ЛЭ в большом количестве высвобождает из него растворимый гепарансульфат, который является эндогенным лигандом Toll-подобного рецептора 4 класса (TLR4) различных клеток и, как следствие, запускает в организме эндогенный путь развития синдрома системного воспалительного ответа [30]. Поверхностная протеаза-3, действуя совместно с ЛЭ, усиливает нейтрофильное воспаление путём деградации предшественника гранулина-эпителина (програнулина), выполняющего в организме функцию супрессора развития воспалительного процесса [31], а катепсин G преобразует на поверхности активированных нейтрофилов ангиотензин I в ангиотензин II, выполняя функцию ангиотензинпревращающего фермента, что является важным дополнительным фактором повышения проницаемости сосудов и нарушения регуляции артериального давления [32].

Причину тяжёлых осложнений при COVID-19 в настоящее время объясняют чрезмерной воспалительной реакцией на SARS-CoV-2 [1, 3, 5, 22], очень интенсивной секреторной азурофильной дегрануляцией нейтрофилов [16], индуцируемой вирусом на фоне как количественного, так и функционального дефицита ААТ [2, 11]. Частично утрачивать свои функциональные свойства ААТ может под влиянием протеолитических ферментов [9], табачного дыма [33], при интенсивном окислении в условиях окислительного стресса [2], а также при адсорбции большого количества ЛЭ на нитях молекулы ДНК,

образующих каркас ДНК-сетей НВЛ [23]. Значительное увеличение продукции АФК сопровождается все респираторные вирусные инфекции, в том числе COVID-19 [34]. При окислительном стрессе окисляется большое количество присутствующих в лизосомах ионов железа, что нарушает стабильность лизомальных мембран [35]. Чрезмерная дегрануляция нейтрофилов приводит к массивной их гибели и неизбежному аутолизису этих клеток (некрозу или вторичному некрозу) с высвобождением большого количества молекул СЛП во внеклеточное пространство [27, 36]. В этих условиях ещё больше возрастает роль ААТ в защите клеток и тканей организма от разрушительного действия ЛЭ.

Действие α_1 -антитрипсина как эндогенного супрессора воспаления и регулятора формирования нейтрофильных внеклеточных ловушек

В свете современных представлений высвобождаемые при дегрануляции нейтрофилов СЛП рассматриваются как сигнальные молекулы, контролируемые, подобно гормонам, функцию различных клеток, вовлекаемых в развитие воспаления и в процесс коагуляции. Сигнальный путь реализуется путём протеолитической модуляции экспрессии и активности рецепторов на клеточной поверхности, а также посредством регуляции синтеза и секреции клетками цитокинов [37, 38]. Тромбоциты, лимфоциты, макрофаги, эндотелиальные и эпителиальные клетки экспрессируют на своей поверхности специальные протеолитически активируемые рецепторы (protease-activated receptors — PARs), которые выполняют функцию сенсоров протеаз при воспалении и иммунном ответе. Связываясь с рецептором семейства PARs, протеаза отщепляет от него N-концевой пептид, что открывает привязанный лиганд (пептид, агонист протеазы). Лиганд активирует рецептор, запуская каскад сигнальных реакций, приводящих к быстрой транскрипции генов, ответственных за стимуляцию продукции цитокинов и регулирующих клеточную гибель в очаге воспаления [39, 40].

Через PAR1 и PAR2 на эпителиальных клетках поверхностные СЛП активированных нейтрофилов регулируют секреторную функцию эпителия и лейкоцитарную трансэпителиальную миграцию [37]. Активируя эпителиальные клетки и расщепляя связывающих их кадгерин, ЛЭ индуцирует апоптоз эпителиоцитов [41]. Причём данные T. Suzuki и соавт. свидетельствуют о том, что в этом случае апоптоз запускается по пути, который контролируется протеолитической активацией PAR1 на поверхности клеток лёгочного эпителия — PAR-1–NF- κ B–p53 [42]. Катепсин G активирует через PAR4 секреторную функцию тромбоцитов, регулируя таким обра-

зом их взаимодействие с нейтрофилами и другими клетками в очаге воспаления. Через PAR2 все три СЛП регулируют секрецию цитокинов и хемокинов Т-лимфоцитами-хелперами и другими лейкоцитами [37, 39]. По экспериментальным данным, мышинные лимфоциты, утратив экспрессию PAR2 в результате генетической мутации, продуцируют в ответ на антигенную стимуляцию значительно меньше интерферона- γ и интерлейкина-17 (ИЛ-17) [43]. Экспрессия PARs на поверхности нейтрофилов приводит к активации этих рецепторов поверхностными СЛП и, как следствие, к повышенной продукции в кровь провоспалительных цитокинов нейтрофильными гранулоцитами, стимулированными ЛПС, форбол-12-мири-стат-13-ацетатом или хемоаттрактантами [39].

ААТ, регулирующий активность СЛП плазмы крови человека, является мощным эндогенным супрессором воспаления, ограничивающим продукцию АФК [44] и секрецию в кровь провоспалительных цитокинов. При антигенной стимуляции лейкоцитов в образцах цельной крови лиц с врождённым дефицитом ААТ клетки продуцируют ИЛ-6 и ИЛ-1 соответственно в 3,4 и 8,4 раза больше, чем лейкоциты крови доноров, не имеющих такой патологии. Гиперсекрецию цитокинов в плазму крови лиц с дефицитом ААТ подавлял предварительно выделенный из крови белок ААТ, если он добавлялся в кровь перед антигенной стимуляцией в нормальной физиологической концентрации, и это обеспечивало эффективность супрессии по ИЛ-6, фактору некроза опухоли- α (ФНО- α) и ИЛ-1 — 97, 91 и 47% соответственно. Спонтанную продукцию ИЛ-1, -6 и ФНО- α отдельными лейкоцитами можно было активировать путём разведения крови средой RPMI, т.к. разведение снижало концентрацию α_1 -протеиназного ингибитора (белка ААТ) в плазме [8].

«Цитокиновому шторму» и «протеолитическому шторму» в организме пациентов с тяжёлой формой COVID-19 сопутствует массивная продукция активированными клетками НВЛ [1, 2, 4, 22]. Нетоз — это АФК-зависимый процесс, который представляет собой генетически детерминированную запрограммированную гибель нейтрофилов и связан с последовательными необратимыми морфологическими изменениями в клетках: деконденсацией хроматина; фрагментацией ядерных и лизосомальных мембран; смешиванием ядерных структур с содержимым цитоплазмы и нарушением целостности цитоплазматической мембраны; высвобождением во внеклеточное пространство нитей молекулы ДНК (ДНК-сетей), декорированных гистонами, большим количеством молекул ЛЭ, а также двух других СЛП и различных бактерицидных катионных белков цитоплазматических гранул [2, 27].

Способность вирусов индуцировать нетоз прямым воздействием на нейтрофильные гранулоциты признана сравнительно недавно, и молекулярные

механизмы формирования НВЛ в контексте вирусной инфекции мало изучены. В запуске этого процесса могут участвовать эндосомные TLR7 и TLR8, как в случае с ВИЧ-1, или β_2 -интегрины, как в случае с хантавирусами [45], но пока нет данных о том, что SARS-CoV-2 проникает в нейтрофилы или в большом количестве адсорбируется на клеточной поверхности, чтобы запустить в этих клетках процесс интенсивной азурофильной дегрануляции. Тем не менее результаты патологоанатомических работ подтверждают факт обширной инфильтрации лёгочной ткани умерших от COVID-19 пациентов нейтрофилами, формирующими НВЛ [2, 3], а высокое содержание НВЛ в мазках периферической крови, окрашенных по Романовскому–Гимзе (более 16%), предложено использовать как критерий негативного прогноза течения COVID-19 и риска летального исхода заболевания [22]. Гиперсекреция НВЛ в условиях новой вирусной инфекции способствует развитию альвеолита, повреждению эндотелия, активации тромбоцитов и множества других процессов, которые в итоге запускают внутрисосудистое свертывание крови [1]. Центральную роль в механизме развития тяжёлой фибринолитической недостаточности может играть адсорбция большого количества молекул ЛЭ в ДНК-сетях НВЛ [2], сильно нарушающая эффективность ингибирования этой СЛП ее плазменным ингибитором ААТ [23].

Деконденсацию ядерного хроматина при формировании ДНК-сетей НВЛ запускает ЛЭ, которая в случае чрезмерной дегрануляции нейтрофилов попадает в клеточные ядра, где расщепляет ядерные гистоны, ответственные за поддержание хроматина неактивированных клеток в плотном конденсированном состоянии. Фактически нетоз регулируется эластазой, а также миелопероксидазой, усиливающей эффект ЛЭ [27]. В условиях *in vivo* ключевую роль ЛЭ в запуске нетоза доказывает способность препарата специфического низкомолекулярного ингибитора ЛЭ (сивелестат) предотвращать формирование НВЛ и спасать животных при эндотоксическом шоке, индуцируемом летальными дозами ЛПС грамотрицательных бактерий. Этот препарат, разработанный в Японии и Южной Корее для лечения пациентов с ОРДС, вводился в организм лабораторных животных с использованием особых наночастиц, пролонгирующих его защитное действие [46].

К накоплению НВЛ в крови и различных органах приводит дисбаланс между нетозом и процессом удаления ДНК-сетей из организма, контролируемым ДНКазой I [3]. Такой дисбаланс может быть связан с недостаточной активностью нуклеазы (например, при атеросклерозе) [32], а возможную причину снижения активности ДНКазы I объясняют существенным изменением структурных и адгезивных свойств ДНК-сетей НВЛ, формируемых в условиях дефицита ААТ [28]. Несбалансированное

формирование НВЛ зарегистрировано в настоящее время при всех известных аутоиммунных и хронических воспалительных заболеваниях, связанных с неконтролируемым разрушением соединительной ткани. Поскольку лица, имеющие эти заболевания, относятся к группе риска по тяжёлому течению COVID-19 [2], а сами эти болезни протекают на фоне врождённого (и/или приобретённого) дефицита ААТ [7], то контролирующей активность ЛЭ плазменный ингибитор СЛП (белок ААТ) играет, вероятно, решающую роль как фактор, ограничивающий формирование ДНК-сетей НВЛ и их накопление при COVID-19 в лёгких и периферической крови больных [6].

α_1 -Антитрипсин препятствует проникновению SARS-CoV-2 в эпителиальные клетки

Получать доступ к эпителиальным клеткам-мишеням всем коронавирусам, способным вызвать у людей смертельное заболевание (SARS-CoV, MERS-CoV, и SARS-CoV-2), позволяет вирусный S-белок, который связывается с поверхностным рецептором ангиотензинпревращающего фермента-2 либо с коллагеновым рецептором дипептидилпептидазой IV (CD26) в случае инфицирования MERS-CoV. Для ускорения процесса проникновения коронавирусов в клетки-мишени требуется протеолитическое расщепление S-протеина на две субъединицы (S1 и S2) TMPRSS-2, экспрессируемой на поверхности эпителиоцитов респираторного и пищеварительного трактов, верхние отделы которых являются входными воротами инфекции [34, 47].

Из объединённого 20-литрового объёма жидкости бронхоальвеолярного лаважа, полученного от серонегативных по SARS-CoV-2 здоровых доноров, L. Wettstein и соавт. выделили фракции различных белков с целью определения их способности ингибировать проникновение SARS-CoV-2 в эпителиальные клетки [12]. Была установлена фракция, лучше всего подавляющая раннюю внутриклеточную стадию развития вирусной инфекции. В этой фракции был идентифицирован конкретный белок (серпин ААТ), ответственный за ингибирование процесса проникновения SARS-CoV-2 как в клетки лёгочного эпителия человека, так и в эпителиальные клетки линии Vero E6, экспрессирующие поверхностную TMPRSS-2. Специфичность ААТ при ингибировании проникновения SARS-CoV-2 была продемонстрирована его неспособностью подавлять вирусные псевдочастицы, несущие G-белок вируса везикулярного стоматита.

По данным K.Y. Oguntayo и соавт., сыворотки крови индивидуумов, не имевших контакта с SARS-CoV-2, с высокой эффективностью ингибировали проникновение этого вируса в клетки эпителия и ответственным за это был ААТ, действие которого

могло быть связано с нейтрализацией протеолитической активности как TMPRSS-2, так и ЛЭ [14]. Хотя *in vitro* модулирующий эффект ЛЭ на процесс проникновения в клетки SARS-CoV-2 ещё экспериментально не подтверждён, этот эффект достаточно хорошо изучен при моделировании взаимодействия эпителиальных клеток с SARS-CoV (вирусом 2002 г.) [48] и может иметь важное значение как фактор, существенно ускоряющий распространение вируса в условиях *in vivo*, когда в очаг воспаления мигрирует большое количество активированных нейтрофилов и возникает дисбаланс в системе эластаза–ААТ. В присутствии активной эластазы, оказывающей повреждающее воздействие на эпителиальные клетки и их рецепторы [37, 42], в 100–1000 раз увеличивается скорость проникновения коронавируса в эпителиоциты и, как следствие, резко повышается интенсивность его внутриклеточного размножения [49]. Кроме TMPRSS-2 и эластазы, расщеплять S-белок, позволяющий коронавирусам получать доступ к клеткам-мишеням, могут и другие протеазы, изменяющие проницаемость клеточных мембран: трипсин, катепсин и TMPRSS-11a. Привлечение дополнительных протеаз для нарезания S-протеина, вероятно, расширяет спектр чувствительных к коронавирусам клеток-мишеней и может быть одним из важных факторов патогенности [47].

У лабораторных животных совместное интраназальное введение SARS-CoV с ЛПС грамотрицательных бактерий вызывало острую вирусную инфекцию с развитием тяжёлой формы пневмонии, в то время как в ответ на введение в верхние дыхательные пути той же дозы одного коронавируса острое вирусное заболевание не прогрессировало. В этих опытах ЛПС применяли в нетоксичных дозах, при которых он сам по себе не индуцировал в организме существенных патологических изменений. Авторы этих исследований объясняют феномен хорошо известной способностью ЛПС функционально активировать нейтрофилы с высвобождением на поверхность клеток ЛЭ и других СЛП, а также стимулирующим эффектом ЛЭ на процесс проникновения вируса в эпителиальные клетки верхних дыхательных путей. Иначе невозможно было бы объяснить, почему развитие тяжёлой формы лёгочной инфекции при совместном введении вируса и ЛПС подавляли специфические ингибиторы ЛЭ [50].

Обсуждение

Несмотря на почти 20-летнюю историю изучения коронавирусов, понимание патогенеза новой коронавирусной инфекции, обусловленной SARS-CoV-2, остаётся неполным, особенно в отношении механизма запуска каскада реакций в организме, приводящих к полиорганной дисфункции. Поиск эффективных методов профилактики и лечения этой потенциально опасной инфекции продолжается.

В условиях, когда подавляющая часть населения Земли против COVID-19 ещё не вакцинирована, необходимо продолжать исследование уже существующих противовирусных и противовоспалительных препаратов с приемлемым профилем безопасности в качестве средств, нацеленных на SARS-CoV-2 и на предотвращение запуска патофизиологических механизмов тяжёлого течения COVID-19.

Появление современной гипотезы о ключевой роли в патогенезе COVID-19 нетоза и нарушенной при нетозе регуляции активности ЛЭ ее ингибитором ААТ [2], тесно связано с изменившимися в новом тысячелетии представлениями о той роли, которую нейтрофильные гранулоциты играют в иммунопатогенезе широкого спектра различных заболеваний инфекционной и неинфекционной этиологии [51]. Нетоз как механизм формирования НВЛ был открыт в 2004 г., в период между вспышкой коронавирусной инфекции 2002 г. и нынешней пандемией SARS-CoV-2, что явилось мощным стимулом для проведения исследований, лежащих в основе данной гипотезы. Недавно начаты клинические испытания при COVID-19 препарата дорназа альфа (рекомбинантная человеческая дезоксирибонуклеаза-1, ДНКаза I) [3], а также специфических ингибиторов TMPRSS-2 (камостат) [52] и ЛЭ [5]. Специалисты прогнозируют повышенную эффективность стратегии одновременного использования нуклеазы и ингибиторов протеаз на фоне антиоксидантной терапии. В этом случае лечение будет направлено не только на клиренс сетей НВЛ, но и на предотвращение процесса формирования новых НВЛ в условиях *in vivo*.

Новая информация о молекулярных механизмах патогенеза COVID-19, в кратчайшие сроки полученная совместными усилиями учёных различных стран, представляет интерес для специалистов, занимающихся изучением вопросов патогенеза как вирусных, так и бактериальных особо опасных инфекционных болезней. Например, недостаточно изучен патогенез лёгочной формы чумы и туляремии, поскольку о способности устойчивых к фагоцитозу клеток *Yersinia pestis* и *Francisella tularensis* запускать гибель нейтрофилов организма хозяина с длительной задержкой по времени стало известно лишь в новом тысячелетии [53, 54]. Эта задержка приводит к массивному аутолизису нейтрофилов в периферической крови на 2–3-и сутки после аэрогенного заражения и к молниеносной генерализации воспалительного процесса с быстрым развитием в организме ДВС-синдрома, что объясняют высвобождением в плазму крови огромного количества молекул ЛЭ [36].

Заключение

Таким образом, анализ источников литературы показывает важную роль количественного и функционального дефицита плазменного ингибитора

СЛП — ААТ в патогенезе новой коронавирусной инфекции, вследствие чего представляется обоснованным применение медикаментозных средств, подавляющих активность TMPRSS-2 и ЛЭ, для профилактики и лечения COVID-19. Дальнейшие полномасштабные клинико-экспериментальные исследования в этом направлении позволят детализировать механизм патогенеза новой коронавирусной инфекции и будут способствовать разработке эффективных средств и методов борьбы с SARS-CoV-2.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Макацария А.Д., Слуханчук Е.В., Бицадзе В.О., Хизроева Д.Х., Третьякова М.В., Цибилова В.И. и др. COVID-19, нарушения гемостаза и риск тромботических осложнений. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2020; 75(4): 306–17. <https://doi.org/10.15690/vramn1368>
2. Thierry A., Roch V. Neutrophil extracellular traps and by-products play a key role in COVID-19: pathogenesis, risk factors, and therapy. *J. Clin. Med.* 2020; 9(9): 2942. <https://doi.org/10.3390/jcm9092942>
3. Амелина Е.Л., Каширская Н.Ю., Шмарина Г.А., Красовский С.А., Кудлай Д.А., Маркова О.А. и др. Дорназа альфа в лечении COVID-19: разрушение нейтрофильных внеклеточных ловушек. *Пульмонология*. 2020; 30(3): 344–9. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2020-30-3-344-349>
4. Fornasari P.M. COVID-19: Neutrophils «unfriendly fire» imbalance proteolytic cascades triggering clinical worsening and viral sepsis. Potential role explanation for convalescent plasma as «Firehose». *J. Blood Res. Hematol. Dis.* 2020; 5(2). [https://doi.org/10.37532/jbhrd.2020.5\(2\).120](https://doi.org/10.37532/jbhrd.2020.5(2).120)
5. Thierry A.R. Anti-protease treatments targeting plasmin(ogen) and neutrophil elastase maybe beneficial in fighting COVID-19. *Physiol. Rev.* 2020; 100(4): 1597–8. <https://doi.org/10.1152/physrev.00019.2020>
6. Bai H., Hippensteel J., Leavitt A., Maloney J.P., Beckham D., Garcia C., et al. Hypothesis: alpha-1-antitrypsin is a promising treatment option for COVID-19. *Med. Hypothesis*. 2021; 146: 110394. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2020.110394>
7. De Serres F., Blanco I. Role alpha-1 antitrypsin in human health and disease. *J. Internal Medicine*. 2014; 276(4): 311–35. <https://doi.org/10.1111/joim.12239>
8. Pott G.B., Chan E.D., Dinarello C.A., Shapiro L. Alpha-1-antitrypsin is an endogenous inhibitor of proinflammatory cytokine production in whole blood. *J. Leukoc. Biology*. 2009; 85(5): 886–95. <https://doi.org/10.1189/jlb.0208145>
9. Korkmaz B., Horvitz M.S., Jenne D.E., Ganthier F. Neutrophil elastase, protease 3 and cathepsin G as therapeutic targets in human diseases. *Pharmacol. Rev.* 2010; 62(4): 726–59. <https://doi.org/10.1124/pr.110.002733>
10. Яровая Г.А. Свойства и клинико-диагностическое значение определения эластазы из панкреатической железы и полиморфноядерных лейкоцитов. *Лабораторная медицина*. 2006; 8: 43–9.
11. Yoshikura H. Epidemiological correlation between COVID-19 and epidemical prevalence of α -1 antitrypsin deficiency in the world. *Glob. Health Med.* 2020; 3(2): 73–81. <https://doi.org/10.35772/ghm.2020.01068>
12. Wettstein L., Weil T., Conzelmann C., Müller J.A., Groß R., Hirschenberger M., et al. Alpha-1-antitrypsin inhibits TMPRSS2 protease activity and SARS-CoV-2 infection. *Nat. Commun.* 2020; 12(1): 1726. DOI: 10.1038/s41467-021-21972-0
13. Jourdain M., Carrette O., Tournays A., Fourier F., Mizon C., Mangalaboyi J., et al. Effects of inter- α -inhibitor in experimental endotoxic shock and disseminated intravascular coagulation. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997; 156(6): 1825–33. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.156.6.9611100>
14. Oguntuyo K.Y., Stevens C.S., Siddiquey M., Schilke R.M., Woodlard M.D., Zang H., et al. In plain sight: the role of alpha-1 antitrypsin in COVID-19 pathogenesis and therapeutics. *bioRxiv*. 2020; Preprint. <https://doi.org/10.1101/2020.08.14.248880>
15. Zerimech F., Jourdain M., Ouraed B., Bouchecareilh M., Seudid B., Duhamel A., et al. Protease-antiprotease imbalance in patients with severe COVID-19. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2021; 59(8): e330–e334. <https://doi.org/10.1515/cclm-2021-0137>
16. Akgun E., Tuzuner M.B., Suhin B., Kilercik K.M., Kulah S., Cakiroglu H.V., et al. Proteins associated with neutrophil degranulation are upregulated in nasopharyngeal swabs from SARS-CoV-2 patients. *PLoS One*. 2020; 15(10): e0240012. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240012>
17. Zheutlin L.M., Thonar E., Jacobs E.R., Hanley M.E., Balk R.A., Bone R.C. Plasma elastase levels in the adult respiratory distress syndrome. *J. Crit. Care*. 1986; 1(1): 39–44. [https://doi.org/10.1016/S0883-9441\(86\)80115-0](https://doi.org/10.1016/S0883-9441(86)80115-0)
18. Madoiwa S., Tanaka H., Nagahama Y., Dokai M., Kashiwakura Y., Ishiwata A. Degradation of cross-linked fibrin by leukocyte elastase as alternative pathway for plasmin-mediated fibrinolysis in sepsis-induced disseminated intravascular coagulation. *Thromb. Res.* 2011; 127(4): 349–55. <https://doi.org/10.1016/j.tromres.2010.12.008>
19. Kawabata K., Hagio T., Matsuoka S. The role of neutrophil elastase in acute lung injury. *Eur. J. Pharmacol.* 2002; 451(1): 1–10. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(02\)02182-9](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(02)02182-9)
20. Доценко В.Л., Спирина А.Я., Макинский А.И., Нешкова Е.А., Ёршикова Ю.Е., Яровая Г.А. Эластаза в плазме крови больных туберкулёзом и ее роль в нарушении регуляции процессов свертывания крови. *Вопросы медицинской химии*. 2000; 46(2): 176–83.
21. Gabazza E.C., Taguchi O., Yamakami T., Machishi M., Iyata H., Suzuki S. Correlation between increased granulocyte elastase release and activation of blood coagulation in patients with lung cancer. *Cancer*. 1993; 72(7): 2134–40. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19931001\)72:7%3C2134::aid-cnrcr2820720712%3E3.0.co;2-8](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19931001)72:7%3C2134::aid-cnrcr2820720712%3E3.0.co;2-8)
22. Кассина Д.В., Василенко И.А., Гурьев А.С., Волков А.Ю., Метелин В.Б. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: значение для диагностики и прогноза COVID-19. *Альманах клинической медицины*. 2020; 48(S1): S43–50. <https://doi.org/10.18786/2072-05-05-2020-48-029>
23. Da Cruz D.B., Helms J., Aquino L.R., Steil L., Cougordan L., Broussard C., et al. DNA-bound elastase of neutrophil extracellular traps degrades plasminogen, reduces plasmin formation, and decreases fibrinolysis: proof of concept in septic shock plasma. *FASEB J.* 2019; 33(12): 14270–80. <https://doi.org/10.1096/fj.201901363RRR>
24. Liou T.G., Campbell E.J. Non-isotropic enzyme-inhibitor interactions: a novel non-oxidative mechanism for quantum proteolysis by human neutrophils. *Biochemistry*. 1995; 34(49): 16171–7. <https://doi.org/10.1021/bi.0049a032>
25. Owen C.A., Campbell M.A., Sunnes P.L., Boukedes S.S., Campbell E.J. Cell surface-bound elastase and cathepsin G on human neutrophils: a novel, non-oxidative mechanism by which neutrophils focus and preserve catalytic activity of serine proteases. *J. Cell Biol.* 1995; 131(3): 775–89. <https://doi.org/10.1083/jcb.131.3.775>
26. Weitz J.L., Huang A.J., Landman S.L., Nicholson S.C., Silverstain S.C. Elastase-mediated fibrinogenolysis by chemoattractant-stimulated neutrophils occurs in the presence of physiological concentrations of antiproteases. *J. Exp. Med.* 1987; 166(6): 1836–50. <https://doi.org/10.1084/jem.166.6.1836>
27. Papayannopoulos V., Medzler K.D., Hakkim A., Zychlinsky A. Neutrophil elastase and myeloperoxidase regulate the formation of neutrophil extracellular traps. *J. Cell Biol.* 2010; 191(3):

- 677–91. <https://doi.org/10.1083/jcb.201006052>
28. Freuzel E., Korenbaum E., Hagermann J., Ochs M., Koepke J., Koczulla A.R., et al. Does augmentation with alpha-1 antitrypsin affect neutrophil extracellular traps formation? *Int. J. Biol. Sci.* 2012; 8(7): 1023–5. <https://doi.org/10.7150/ijbs.4701>
 29. Hermant B., Biber T.S., Concord E., Dublet B., Weidenhant M., Vernet T., et al. Identification of proteases involved in the proteolysis of vascular endothelium cadherin during transmigration. *J. Biol. Chim.* 2003; 278(16): 14002–12. <https://doi.org/10.1074/jbc.M300351200>
 30. Tang A.H., Brunn G.J., Cascalho M., Platt J.L. Pivotal advance: endogenous pathway to SIRS, sepsis and related conditions. *J. Leukoc. Biol.* 2007; 82(2): 282–5. <https://doi.org/10.1189/jlb.1206752>
 31. Ungurs M.J., Sinden N.J., Stockley R.A. Progranulin is a substrate for neutrophil elastase and proteinase 3 in the airway and its concentration correlates with mediators of airway inflammation in COPD. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2014; 306(1): L80–7. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00221.2013>
 32. Panagiotidis N.G., Hofbauer T.M., Ondracek A.S., Mangold A., Winker R., Land I.M. Cathepsin G bypasses the classic renin angiotensin system, leading to enhanced neutrophil extracellular trap formation. *Atherosclerosis.* 2020; 315: E123. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2020.10.377>
 33. Carp H., Miller F., Hoidal J.R., Janoff A. Potential mechanism of emphysema: alpha-1-proteinase inhibitor recovered from lungs of cigarette smokers contains oxidized methionine and has decreased elastase inhibitory capacity. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1982; 79(6): 2041–5. <https://doi.org/10.1073/pnas.79.6.2041>
 34. Даренская М.А., Колесникова Л.И., Колесников С.И. COVID-19: окислительный стресс и актуальность антиоксидантной терапии. *Вестник Российской академии медицинских наук.* 2020; 75(4): 318–25. <https://doi.org/10.15690/vramn1360>
 35. Yu Z., Persson H.L., Eaton J.W., Brunk U.T. Intralysosomal iron: a major determinant of oxidant-induced cell death. *Free Radic. Biol. Med.* 2003; 34(10): 1243–52. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(03\)00109-6](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(03)00109-6)
 36. Silva M.T. Bacteria-induced secondary necrosis as a pathogenicity mechanism. *J. Leukoc. Biol.* 2010; 88(5): 885–96. <https://doi.org/10.1189/jlb.0410205>
 37. Pham C.T. Neutrophil serine proteases fine-tune the inflammatory response. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2007; 40(6–7): 1317–33. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2007.11.008>
 38. Bank U., Ansorge S. More than destructive: neutrophil-derived serine proteases in cytokine bioactivity control. *J. Leukoc. Biol.* 2001; 69(2): 197–206. <https://doi.org/10.1189/jlb.69.2.197>
 39. Shpacovitch V., Fild M., Hollenberg M.D., Luger T.A., Steinhoff M. Role of protease-activated receptors in inflammatory responses, innate and adaptive immunity. *J. Leukoc. Biol.* 2008; 83(6): 1309–22. <https://doi.org/10.1189/jlb.0108001>
 40. Hollenberg M.D. Physiology and pathophysiology of proteinase-activated receptors (PARs): proteinases as hormone-like messengers: PARs and more. *J. Pharmacol. Sci.* 2005; 97(1): 8–13. <https://doi.org/10.1254/jphs.fmj04005x2>
 41. Boxio R., Wartelle J., Nawrocki-Raby B., Legrange B., Mallet L., Hirche T., et al. Neutrophil elastase cleaves epithelial cadherin in acutely injured lung epithelium. *Respir. Res.* 2016; 17(1): 129. <https://doi.org/10.1186/s12931-016-0449-x>
 42. Suzuki T., Yamashita C., Zemans R.L., Brioms N., Linden A.V., Downey G.P. Leukocyte elastase induces lung epithelial apoptosis via PAR-1, NF-kappaB and p53-dependent pathway. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2009; 41(6): 742–55. <https://doi.org/10.1165/rmb.2008-0157oc>
 43. Crilly A., Parmer H., Nickdel M.B., Dunning L., Lockhart J.C., Plevin R., et al. Immunomodulatory role of proteinase-activated receptor-2. *Ann. Rheum. Dis.* 2012; 71(9): 1559–66. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2011-200869>
 44. Bucurenci N., Blake D.R., Chidwick K., Winyard P.G. Inhibition of neutrophil superoxide production by human plasma alpha-1 antitrypsin. *FEBS Lett.* 1992; 300(1): 21–4. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(92\)80156-B](https://doi.org/10.1016/0014-5793(92)80156-B)
 45. Schönrich G., Raftery M.J. Neutrophil extracellular traps go viral. *Front. Immunol.* 2016; 7: 366. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00366>
 46. Okeke E.B., Lonttit C., Fry C., Najafabadi A.H., Han K., Nemzek J., et al. Inhibition of neutrophil elastase prevents neutrophil extracellular traps formation and rescues mice from endotoxic shock. *Biomaterials.* 2020; 238: 119836. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.119836>
 47. Millet J.K., Whittaker G.R. Host cell proteases: critical determinants of coronavirus tropism and pathogenesis. *Virus Res.* 2015; 202: 120–34. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2014.11.021>
 48. Belauzard S., Madu I., Whittaker G.R. Elastase mediated activation of the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein at discrete sites with the S2 domain. *J. Biol. Chem.* 2010; 285(30): 22758–63. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.103275>
 49. Matsuyama S., Ujike M., Morikawa S., Tashiro M., Taguchi F. Protease-mediated enhancement of severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2005; 102(35): 12543–7. <https://doi.org/10.1073/pnas.0503203102>
 50. Ami Y., Nagata N., Shirato K., Watanabe R., Iwata N., Nakagaki K., et al. Co-infection of respiratory bacterium with severe acute respiratory syndrome coronavirus induces an exacerbated pneumonia in mice. *Microbiol. Immunol.* 2008; 52(2): 118–27. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2008.00011.x>
 51. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А., Ломтаидзе Л.В., Ковалева С.В., Евлевский А.А. Нейтрофильные гранулоциты: новый взгляд на «старых игроков» на иммунологическом поле. *Иммунология.* 2015; 36(4): 257–65.
 52. Аширметов А.Х., Мавлянов И.Р., Мавлянов З.И., Жарылкасынова Г.Ж. COVID-19: известные препараты, новые возможности. *Анализ риска здоровью.* 2020; (4): 170–80. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2020.4.19>
 53. Шмелькова Т.П., Кравцов А.Л., Щуковская Т.Н., Ляпин М.Н., Костюкова Т.А., Малюкова Т.А. и соавт. Влияние биологических свойств чумного микроба на развитие апоптоза лейкоцитов крови человека в системе in vitro. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2007; (1): 85–9.
 54. Pulaverdhan S., Prasanthi M., Ramachandran A., Grant R., Snider T.A., Chow V.T.K., et al. Production of neutrophil extracellular traps contributes to the pathogenesis of Francisella tularemia. *Front. Immunol.* 2020; 11: 679. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00679>

REFERENCES

1. Makatsariya A.D., Slukhanchuk E.V., Bitsadze V.O., Khizroeva D.Kh., Tret'yakova M.V., Tsibizova V.I., et al. COVID-19, hemostasis disorders and risk of thrombotic complications. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk.* 2020; 75(4): 306–17. <https://doi.org/10.15690/vramn1368> (in Russian)
2. Thierry A., Roch B. Neutrophil extracellular traps and by-products play a key role in COVID-19: pathogenesis, risk factors, and therapy. *J. Clin. Med.* 2020; 9(9): 2942. <https://doi.org/10.3390/jcm9092942>
3. Amelina E.L., Kashirskaya N.Yu., Shmarina G.A., Krasovskiy S.A., Kudlay D.A., Markova O.A., et al. Dornase alfa in the treatment of Covid-19: destruction of neutrophil extracellular traps. *Pul'monologiya.* 2020; 30(3): 344–9. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2020-30-3-344-349> (in Russian)
4. Fornasari P.M. COVID-19: Neutrophils «unfriendly fire» im-

- balance proteolytic cascades triggering clinical worsening and viral sepsis. Potential role explanation for convalescent plasma as «Firehose». *J. Blood Res. Hematol. Dis.* 2020; 5(2). [https://doi.org/10.37532/jbhrd.2020.5\(2\).120](https://doi.org/10.37532/jbhrd.2020.5(2).120)
5. Thierry A.R. Anti-protease treatments targeting plasmin(ogen) and neutrophil elastase maybe beneficial in fighting COVID-19. *Physiol. Rev.* 2020; 100(4): 1597–8. <https://doi.org/10.1152/physrev.00019.2020>
 6. Bai H., Hippensteel J., Leavitt A., Maloney J.P., Beckham D., Garcia C., et al. Hypothesis: alpha-1-antitrypsin is a promising treatment option for COVID-19. *Med. Hypothesis.* 2021; 146: 110394. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2020.110394>
 7. De Serres F., Blanco I. Role alpha-1 antitrypsin in human health and disease. *J. Internal Medicine.* 2014; 276(4): 311–35. <https://doi.org/10.1111/joim.12239>
 8. Pott G.B., Chan E.D., Dinarello C.A., Shapiro L. Alpha-1-antitrypsin is an endogenous inhibitor of proinflammatory cytokine production in whole blood. *J. Leukoc. Biology.* 2009; 85(5): 886–95. <https://doi.org/10.1189/jlb.0208145>
 9. Korkmaz B., Horvitz M.S., Jenne D.E., Ganthier F. Neutrophil elastase, protease 3 and cathepsin G as therapeutic targets in human diseases. *Pharmacol. Rev.* 2010; 62(4): 726–59. <https://doi.org/10.1124/pr.110.002733>
 10. Yarovaya G.A. Properties and clinical diagnostic value of pancreatic and polymorphonuclear leukocyte elastase determination. *Laboratornaya meditsina.* 2006; 8: 43–9. (in Russian)
 11. Yoshikura H. Epidemiological correlation between COVID-19 and epidemical prevalence of α -1 antitrypsin deficiency in the world. *Glob. Health Med.* 2020; 3(2): 73–81. <https://doi.org/10.35772/ghm.2020.01068>
 12. Wettstein L., Weil T., Conzelmann C., Müller J.A., Groß R., Hirschenberger M., et al. Alpha-1-antitrypsin inhibits TMPRSS2 protease activity and SARS-CoV-2 infection. *Nat. Commun.* 2020; 12(1): 1726. DOI: 10.1038/s41467-021-21972-0
 13. Jourdain M., Carrette O., Tournays A., Fourrier F., Mizon C., Mangalaboyi J., et al. Effects of inter- α -inhibitor in experimental endotoxic shock and disseminated intravascular coagulation. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997; 156(6): 1825–33. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.156.6.9611100>
 14. Oguntuyo K.Y., Stevens C.S., Siddiquey M., Schilke R.M., Woodlard M.D., Zang H., et al. In plain sight: the role of alpha-1 antitrypsin in COVID-19 pathogenesis and therapeutics. *bioRxiv.* 2020; Preprint. <https://doi.org/10.1101/2020.08.14.248880>
 15. Zerimech F., Jourdain M., Ouraed B., Bouche-careilh M., Seudid B., Duhamel A., et al. Protease-antiprotease imbalance in patients with severe COVID-19. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2021; 59(8): e330–e334. <https://doi.org/10.1515/ccim-2021-0137>
 16. Akgun E., Tuzuner M.B., Suhin B., Kilercik K.M., Kulah S., Cakiroglu H.V., et al. Proteins associated with neutrophil degranulation are upregulated in nasopharyngeal swabs from SARS-CoV-2 patients. *PLoS One.* 2020; 15(10): e0240012. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240012>
 17. Zheutlin L.M., Thonar E., Jacobs E.R., Hanley M.E., Balk R.A., Bone R.C. Plasma elastase levels in the adult respiratory distress syndrome. *J. Crit. Care.* 1986; 1(1): 39–44. [https://doi.org/10.1016/S0883-9441\(86\)80115-0](https://doi.org/10.1016/S0883-9441(86)80115-0)
 18. Madoiwa S., Tanaka H., Nagahama Y., Dokai M., Kashiwakura Y., Ishiwata A. Degradation of cross-linked fibrin by leukocyte elastase as alternative pathway for plasmin-mediated fibrinolysis in sepsis-induced disseminated intravascular coagulation. *Thromb. Res.* 2011; 127(4): 349–55. <https://doi.org/10.1016/j.tromres.2010.12.008>
 19. Kawabata K., Hagio T., Matsuoka S. The role of neutrophil elastase in acute lung injury. *Eur. J. Pharmacol.* 2002; 451(1): 1–10. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(02\)02182-9](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(02)02182-9)
 20. Dotsenko V.L., Spirina A.Ya., Makinskiy A.I., Neshkova E.A., Ershikova Yu.E., Yarovaya G.A. Leukocyte elastase in plasma of patients with pulmonary tuberculosis and its part in blood coagulation disturbances. *Voprosy meditsinskoy khimii.* 2000; 46(2): 176–83. (in Russian)
 21. Gabazza E.C., Taguchi O., Yamakami T., Machishi M., Ibata H., Suzuki S. Correlation between increased granulocyte elastase release and activation of blood coagulation in patients with lung cancer. *Cancer.* 1993; 72(7): 2134–40. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19931001\)72:7%3C2134::aid-cnrc2820720712%3E3.0.co;2-8](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19931001)72:7%3C2134::aid-cnrc2820720712%3E3.0.co;2-8)
 22. Kassina D.V., Vasilenko I.A., Gur'ev A.S., Volkov A.Yu., Metelin V.B. Neutrophil extracellular traps: diagnostic and prognostic value in Covid-19. *Al'manakh klinicheskoy meditsiny.* 2020; 48(S1): S43–50. <https://doi.org/10.18786/2072-05-05-2020-48-029> (in Russian)
 23. Da Cruz D.B., Helms J., Aquino L.R., Steil L., Cougordan L., Broussard C., et al. DNA-bound elastase of neutrophil extracellular traps degrades plasminogen, reduces plasmin formation, and decreases fibrinolysis: proof of concept in septic shock plasma. *FASEB J.* 2019; 33(12): 14270–80. <https://doi.org/10.1096/fj.201901363RRR>
 24. Liou T.G., Campbell E.J. Non-isotropic enzyme-inhibitor interactions: a novel non-oxidative mechanism for quantum proteolysis by human neutrophils. *Biochemistry.* 1995; 34(49): 16171–7. <https://doi.org/10.1021/bi.0049a032>
 25. Owen C.A., Campbell M.A., Sunnes P.L., Boukedes S.S., Campbell E.J. Cell surface-bound elastase and cathepsin G on human neutrophils: a novel, non-oxidative mechanism by which neutrophils focus and preserve catalytic activity of serine proteases. *J. Cell Biol.* 1995; 131(3): 775–89. <https://doi.org/10.1083/jcb.131.3.775>
 26. Weitz J.I., Huang A.J., Landman S.L., Nicholson S.C., Silverstein S.C. Elastase-mediated fibrinogenolysis by chemoattractant-stimulated neutrophils occurs in the presence of physiological concentrations of antiproteases. *J. Exp. Med.* 1987; 166(6): 1836–50. <https://doi.org/10.1084/jem.166.6.1836>
 27. Papayannopoulos V., Medzler K.D., Hakkim A., Zychlinsky A. Neutrophil elastase and myeloperoxidase regulate the formation of neutrophil extracellular traps. *J. Cell Biol.* 2010; 191(3): 677–91. <https://doi.org/10.1083/jcb.201006052>
 28. Freuzel E., Korenbaum E., Hagermann J., Ochs M., Koepke J., Koczulla A.R., et al. Does augmentation with alpha-1 antitrypsin affect neutrophil extracellular traps formation? *Int. J. Biol. Sci.* 2012; 8(7): 1023–5. <https://doi.org/10.7150/ijbs.4701>
 29. Hermant B., Biber T.S., Concord E., Dublet B., Weidenhaut M., Vernet T., et al. Identification of proteases involved in the proteolysis of vascular endothelium cadherin during transmigration. *J. Biol. Chim.* 2003; 278(16): 14002–12. <https://doi.org/10.1074/jbc.M300351200>
 30. Tang A.H., Brunn G.J., Cascalho M., Platt J.L. Pivotal advance: endogenous pathway to SIRS, sepsis and related conditions. *J. Leukoc. Biol.* 2007; 82(2): 282–5. <https://doi.org/10.1189/jlb.1206752>
 31. Ungurs M.J., Sinden N.J., Stockley R.A. Progranulin is a substrate for neutrophil elastase and proteinase 3 in the airway and its concentration correlates with mediators of airway inflammation in COPD. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2014; 306(1): L80–7. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00221.2013>
 32. Panagiotidis N.G., Hofbauer T.M., Ondracek A.S., Mangold A., Winker R., Land I.M. Cathepsin G bypasses the classic renin-angiotensin system, leading to enhanced neutrophil extracellular trap formation. *Atherosclerosis.* 2020; 315: E123. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2020.10.377>
 33. Carp H., Miller F., Hoidal J.R., Janoff A. Potential mechanism of emphysema: alpha-1-proteinase inhibitor recovered from lungs of cigarette smokers contains oxidized methionine and has decreased elastase inhibitory capacity. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1982; 79(6): 2041–5. <https://doi.org/10.1073/pnas.79.6.2041>
 34. Darenskaya M.A., Kolesnikova L.I., Kolesnikov S.I. COVID-19: oxidative stress and the relevance of antioxidant therapy. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk.* 2020; 75(4): 318–25.

- <https://doi.org/10.15690/vramn1360> (in Russian)
35. Yu Z., Persson H.L., Eaton J.W., Brunk U.T. Intralysosomal iron: a major determinant of oxidant-induced cell death. *Free Radic. Biol. Med.* 2003; 34(10): 1243–52. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(03\)00109-6](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(03)00109-6)
 36. Silva M.T. Bacteria-induced secondary necrosis as a pathogenicity mechanism. *J. Leukoc. Biol.* 2010; 88(5): 885–96. <https://doi.org/10.1189/jlb.0410205>
 37. Pham C.T. Neutrophil serine proteases fine-tune the inflammatory response. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2007; 40(6-7): 1317–33. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2007.11.008>
 38. Bank U., Ansoorge S. More than destructive: neutrophil-derived serine proteases in cytokine bioactivity control. *J. Leukoc. Biol.* 2001; 69(2): 197–206. <https://doi.org/10.1189/jlb.69.2.197>
 39. Shpacovitch V., Fild M., Hollenberg M.D., Luger T.A., Steinhoff M. Role of protease-activated receptors in inflammatory responses, innate and adaptive immunity. *J. Leukoc. Biol.* 2008; 83(6): 1309–22. <https://doi.org/10.1189/jlb.0108001>
 40. Hollenberg M.D. Physiology and pathophysiology of proteinase-activated receptors (PARs): proteinases as hormone-like messengers: PARs and more. *J. Pharmacol. Sci.* 2005; 97(1): 8–13. <https://doi.org/10.1254/jphs.fmj04005x2>
 41. Boxio R., Wartelle J., Nawrocki-Raby B., Legrange B., Maleret L., Hirche T., et al. Neutrophil elastase cleaves epithelial cadherin in acutely injured lung epithelium. *Respir. Res.* 2016; 17(1): 129. <https://doi.org/10.1186/s12931-016-0449-x>
 42. Suzuki T., Yamashita C., Zemans R.L., Brioms N., Linden A.V., Downey G.P. Leukocyte elastase induces lung epithelial apoptosis via PAR-1, NF-kappaB and p53-dependent pathway. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2009; 41(6): 742–55. <https://doi.org/10.1165/rccb.2008-0157oc>
 43. Crilly A., Parmer H., Nickdel M.B., Dunning L., Lockhart J.C., Plevin R., et al. Immunomodulatory role of proteinase-activated receptor-2. *Ann. Rheum. Dis.* 2012; 71(9): 1559–66. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2011-200869>
 44. Bucurenci N., Blake D.R., Chidwick K., Winyard P.G. Inhibition of neutrophil superoxide production by human plasma alpha-1 antitrypsin. *FEBS Lett.* 1992; 300(1): 21–4. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(92\)80156-B](https://doi.org/10.1016/0014-5793(92)80156-B)
 45. Schönrich G., Raftery M.J. Neutrophil extracellular traps go viral. *Front. Immunol.* 2016; 7: 366. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00366>
 46. Okeke E.B., Lonttit C., Fry C., Najafabadi A.H., Han K., Nemzek J., et al. Inhibition of neutrophil elastase prevents neutrophil extracellular traps formation and rescues mice from endotoxic shock. *Biomaterials.* 2020; 238: 119836. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.119836>
 47. Millet J.K., Whittaker G.R. Host cell proteases: critical determinants of coronavirus tropism and pathogenesis. *Virus Res.* 2015; 202: 120–34. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2014.11.021>
 48. Belauzard S., Madu I., Whittaker G.R. Elastase mediated activation of the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein at discrete sites with the S2 domain. *J. Biol. Chem.* 2010; 285(30): 22758–63. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.103275>
 49. Matsuyama S., Ujike M., Morikawa S., Tashiro M., Taguchi F. Protease-mediated enhancement of severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2005; 102(35): 12543–7. <https://doi.org/10.1073/pnas.0503203102>
 50. Ami Y., Nagata N., Shirato K., Watanabe R., Iwata N., Nakagaki K., et al. Co-infection of respiratory bacterium with severe acute respiratory syndrome coronavirus induces an exacerbated pneumonia in mice. *Microbiol. Immunol.* 2008; 52(2): 118–27. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2008.00011.x>
 51. Nesterova I.V., Kolesnikova N.V., Chudilova G.A., Lomtadze L.V., Kovaleva S.V., Evglevskiy A.A. Neutrophilic granulocytes: a new look at «Old players» on the immunological field. *Immunologiya.* 2015; 36(4): 257–65. (in Russian)
 52. Ashirmetov A.Kh., Mavlyanov I.R., Mavlyanov Z.I., Zharylkasynova G.Zh. COVID-19: Well-known drugs, new opportunities. *Analiz riska zdorov'yu.* 2020; (4): 170–80. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2020.4.19> (in Russian)
 53. Shmel'kova T.P., Kravtsov A.L., Shchukovskaya T.N., Lyapin M.N., Kostyukova T.A., Malyukova T.A., et al. Effects of Yersinia pestis biologic characteristics on the development of human blood leukocyte apoptosis in the in vitro system. *Problemy osobo opasnykh infektsiy.* 2007; (1): 85–9. (in Russian)
 54. Pulaverdran S., Prasanthi M., Ramachandran A., Grant R., Snider T.A., Chow V.T.K., et al. Production of neutrophil extracellular traps contributes to the pathogenesis of Francisella tularemia. *Front. Immunol.* 2020; 11: 679. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00679>

Информация об авторах

Кравцов Александр Леонидович[✉] — д.б.н., в.н.с. отдела иммунологии РосНИПЧИ «Микроб», Саратов, Россия, kravzov195723@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9016-6578>

Бугоркова Светлана Александровна — д.м.н., г.н.с. отдела иммунологии РосНИПЧИ «Микроб», Саратов, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7548-4845>

Участие авторов: Кравцов А.Л. — написание статьи. Бугоркова С.А. — коррекция и одобрение статьи. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 30.04.2021;
принята к публикации 08.07.2021;
опубликована 30.10.2021

Information about the authors

Aleksandr L. Kravtsov[✉] — D. Sci. (Biol.), leading researcher, Department of immunology, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Saratov, Russia, kravzov195723@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9016-6578>

Svetlana A. Bugorkova — D. Sci. (Med.), deputy head, Department of immunology, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Saratov, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7548-4845>.

Author contribution: Kravtsov A.L. — writing an article. Bugorkova S.A. — correction and approval of the article. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 30.04.2021;
accepted for publication 08.07.2021;
published 30.10.2021